Journal of Horticultural Science
https://jhs.um.ac.ir

Research Article
Vol. 37, No. 3, Fall 2023, p. 685-697

The Effect of Bio and Chemical Fertilizers on Yield and Quality of Lettuce (*Lactuca sativa* cv. New Red Fire)

P. Molaei [1], T. Barzegar[2]*, M. BabaAkbari Sari[3], F. Nekounam [4], Z. Ghahremani[5]

Received: 26-05-2022
Revised: 03-08-2022
Accepted: 04-08-2022
Available Online: 04-08-2022

How to cite this article:
Molaei, P., Barzegar, T., Baba Akbari Sari, M., Nekounam, F., & Ghahremani, Z. (2023). The effect of bio and chemical fertilizers on yield and quality of lettuce (*Lactuca sativa* cv. New Red Fire). *Journal of Horticultural Science, 37*(3), 685-697. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jhs.2022.76893.1175

Introduction

Excessive use of chemical fertilizers threatens the environment and leads to production of unsafe food products. Currently, the market share of organic vegetables is constantly increasing due to customer demand for safer and healthier food. Therefore, it is necessary to find alternatives instead of using chemical fertilizers in plant production.

Lettuce (*Lactuca sativa* L.), belongs to Asteraceae family is considered as one of the most popular salad vegetables as a cool season crop. It is also one of the most important vegetables due to its rapid growth and commercial value. Plant growth promoting bacteria promote plant growth directly by facilitating nutrient uptake through fixing nitrogen, solubiliszation of phosphorus, production of hormones and iron uptake. Arbuscular mycorrhizal fungi establish symbioses with plant roots which help to improve nutrient uptake by the host plant and alter its physiology to withstand external abiotic factors and pathogens. Arbuscular mycorrhizal fungi interactions with bacteria have been reported to enhance plant growth through phosphate solubilization, nitrogen fixation, increased AMF spore germination and colonization of plant roots. The potential of co-inoculation of these two organisms in promoting the growth of horticultural crops like tomato, strawberry, lettuce and spinach have also been reported.

Materials and Methods

In order to compare the effect of growth-promoting bacteria, mycorrhiza fungi and chemical fertilizers on morphological and physiological properties of lettuce (*Lactuca sativa* cv. New Red Fire), the experiment was carried out in a completely randomized design with three replications. Experiment treatments consisted of 14 treatments including three levels of potassium solubilizing bacteria (*Pseudomonas vancouverensis*, *Pseudomonas koreensis*, *Pseudomonas vancouverensis* + *Pseudomonas koreensis*) + 100% N and P, three levels of phosphorus solubilizing bacteria (*Pantoea agglomerans*, *Pseudomonas putida* and *Pseudomonas putida* + *Pantoea agglomerans*) + 100% N and K, and one level of potassium and phosphorus solubilizing combined bacteria (*Pantoea agglomerans*+ *Pseudomonas koreensis*+ *Pseudomonas putida*+ *Pseudomonas vancouverensis*) + 100% N, mycorrhiza fungi combination of three *Glomus* species (*G. mosseae*, *G. etunicatum* and *G. intraradices*) + 100% N and K and five chemical fertilizer levels (N100P100K100, N100P100K0, N100P0K100, N100P25K100 and N100P100K25) according to soil test results, and control treatment without bio-mineral fertilizers.

The "New Red Fire" lettuce seeds were surface sterilized with 0.5% (v/v) sodium hypochlorite for 10 min, and germinated at 20ºC. After germination, seedlings of similar size were transplanted singly into pots containing agricultural soil. Plants were grown under greenhouse condition of 60/70% (day/night) relative humidity, 15/18 °C (day/night) temperature. After a growth period of 75 days, plants were removed from the

1, 2, 4 and 5- Former M.Sc. Student, Associate Professor, Assistant Professor and Associate Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran, Respectively.
(*- Corresponding Author Email: tbarzegar@znu.ac.ir)
3- Assistant Professor, Department of Soil Sciences, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran
https://doi.org/10.22067/jhs.2022.76893.1175

pots. The root system was separated from the shoot and washed to remove adhered soil. Root and shoot fresh weight, chlorophyll, vitamin C, anthocyanin, TA, TSS and nitrate contents were measured.

Results

The results showed that application of potassium and phosphorus solubilizing bacteria and mycorrhiza fungi significantly increased plant growth compared to control plant. The highest fresh shoot weight (increase of 42.3%) and crown diameter (increase of 14.4%) was obtained with application of combined potassium and phosphorus solubilizing bacteria treatment + 100% N fertilizer compared to control plants. Application of *Pseudomonas koreensis* + 100% N and P resulted in the maximum content of anthocyanin (increase of 62.2%) and total soluble solids (increase of 82.5%) compared to control plants. Ascorbic acid, a well-known antioxidant and organic compound, is an essential vitamin can be obtained from fruits and vegetables. The highest vitamin C content (32.3 mg 100 mL^{-1}) was observed at plant treated with N100P100K100 fertilizer. The maximum titratable acidity content was obtained with application of *Pseudomonas vancouverensis* + 100% N and P, and combined potassium and phosphorus solubilizing bacteria treatment +100% N fertilizer. The nitrate content is an important quality index of leafy vegetables; low nitrate content is associated with enhanced quality. Application of chemical fertilizers significantly increased nitrate accumulation compared to biofertilizers and control plants, so that the minimum nitrate accumulation content was observed in control plant and combined potassium and phosphorus solubilizing bacteria treatment + 100% N fertilizer (21.14 µg g^{-1}FW), respectively.

Conclusion

With continuous development of economy and society, people pay an increasing attention to the quality of fruits and vegetables. Improving the crop yield means that attention must also be given to improving vegetables quality, resulting in chemical fertilizer nutrition problem. To conclude, our study suggested that after the control treatment (without using any chemical fertilizers), which had the lowest accumulation of nitrate, application of growth-promoting bacteria and mycorrhizal fungi in combination with nitrogen fertilizer caused lower nitrate accumulation than chemical fertilizers treatments. So, the use of combined and pure bacteria treatments and mycorrhizal fungus treatment can be used to improve the growth, quality and antioxidant properties and increase the concentration of nutrients and also reducing nitrate accumulation in lettuce.

Keywords: Anthocyanin, Nitrate accumulation, Plant growth promoting bacteria, Vegetable growth

نشریه علوم باغبانی
https://jhs.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۷، شماره ۳، پاییز ۱٤۰۲، ص. ٦۹۷-٦۸٥

تأثیر کودهای زیستی و شیمیایی بر عملکرد و کیفیت کاهو رقم 'نیورد فایر'

(*Lactuca sativa* cv. New Red Fire)

پرستو مولائی[۱]- طاهر برزگر[۲*]- محمد بابا اکبری ساری[۳]- فاطمه نکونام[٤]- زهرا قهرمانی[٥]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۳/۰۵
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۵/۱۲
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۵/۱۳

چکیده

این پژوهش به منظور یافتن کودهای جایگزین، سازگار با محیطزیست برای افزایش شاخص‌های کیفی و کمی و کاهش اثرات منفی کودهای شیمیایی در گیاه کاهو گلخانه‌ای رقم New Red Fire به صورت طرح کاملا تصادفی در سه تکرار به اجرا درآمد. تیمارهای مورد بررسی در این تحقیق ۱۴ تیمار شامل شاهد (بدون مصرف کود و بدون تلقیح)، تلقیح با سه سطح از باکتری‌های انحلال‌کننده پتاسیم (باکتری‌های *سودوموناس کورینسیس*، *سودوموناس ونکورنسیس* و ترکیب دو سویه باکتری‌های *سودوموناس کورینسیس* و *سودوموناس ونکورنسیس*) + ۱۰۰ درصد کود نیتروژن و فسفر، تلقیح با سه سطح از باکتری‌های انحلال‌کننده فسفر (باکتری‌های *سودوموناس پوتیدا*، *پانتوآگلومرانس* و ترکیب دو سویه باکتری‌های *سودوموناس پوتیدا* و *پانتوآگلومرانس*) + ۱۰۰ درصد کود نیتروژن و پتاسیم، تلقیح با یک سطح از ترکیب باکتری‌های انحلال‌کننده پتاسیم و فسفر (باکتری‌های *سودوموناس کورینسیس*، *سودوموناس ونکورنسیس*، *سودوموناس پوتیدا* و *پانتوآگلومرانس*) + ۱۰۰ درصد کود نیتروژن، تلقیح با یک سطح قارچ مایکوریزا از ترکیب سه گونه قارچ *گلوموس موسه‌آ*، *گلوموس اتونیکاتوم* و *گلوموس اینترادیاسه* + ۱۰۰ درصد کود نیترون و پتاسیم، پنج سطح کود شیمیایی ترکیبی از عناصر نیتروژن، فسفر و پتاسیم به صورت N100P100K100، N100P100K0، N100P0K100، N100P25K100 و N100P100K25 با توجه به آزمون خاک بود. نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد، با کاربرد ترکیب باکتری‌های انحلال‌کننده پتاسیم و فسفر + ۱۰۰ درصد کود نیتروژن حداکثر وزن تازه بوته (افزایش ۴۲/۳ درصد)، قطر تاج بوته (افزایش ۴۱/۴ درصد) نسبت به گیاهان شاهد و حداقل تجمع نیترات برگ (۲۱/۱۴ میکروگرم در گرم وزن خشک) بعد از گیاهان شاهد نسبت به سایر تیمارها حاصل شد. کاربرد باکتری *سودوموناس کورینسیس* + ۱۰۰ درصد کود نیتروژن و فسفر موجب حداکثر محتوای آنتوسیانین (افزایش ۶۲/۲ درصد) و مواد جامد محلول (افزایش ۸۲/۵ درصد) نسبت به گیاهان شاهد گردید. بیشترین میزان ویتامین ث (۳۲/۳۹ میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر) با اعمال کود شیمیایی N100P100K100 حاصل شد. با کاربرد ترکیب باکتری‌های انحلال‌کننده پتاسیم و فسفر + ۱۰۰ درصد کود نیتروژن و باکتری *سودوموناس ونکورنسیس* + ۱۰۰ درصد کود نیتروژن و فسفر، حداکثر اسید قابل تیتراسیون با افزایش ۱۵۴/۵ درصد نسبت به گیاهان شاهد بدست آمد. با توجه به نتایج آزمایش می‌توان بیان کرد، تلقیح بذر با ترکیب باکتری‌های انحلال‌کننده پتاسیم و فسفر + ۱۰۰ درصد کود نیتروژن نقش موثری در بهبود خصوصیات رشدی و کیفیت گیاه کاهو دارد.

واژه‌های کلیدی: آنتوسیانین، باکتری‌های محرک رشد، تجمع نیترات، رشد رویشی

۱، ۲، ۴ و ۵- به‌ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد سابق، دانشیار، استادیار و دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: tbarzegar@znu.ac.ir)
۳- استادیار، گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

https://doi.org/10.22067/jhs.2022.76893.1175

مقدمه

کـاهو بـا نـام علمـی .*Lactuca sativa* L مهـم‌تـرین سـبزی سالادی، سرشـار از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، ترکیبات فنلی، ویتـامین هـای C و E و مقادیـر فراوانـی از آهـن، منگنـز، فسـفر، پتاسـیم و فیبر می‌باشد (Kim *et al.*, 2016). کـاهو و کاسـنی در سال ۲۰۱۹ با تولید حدود ۴۵ میلیون تن، در سراسـر جهـان مسـاحتی حدود ۱/۹ میلیـون هکتـار از اراضـی را زیـر کشـت داشت (FAO, 2019). یکی از محدودیت‌های تولید محصولات کشاورزی، فرسـایش و فقیر بودن زمین‌های کشاورزی از عناصر غذایی می‌باشد. برای رفـع این محـدودیت اسـتفاده از کودهـای شـیمیایی بـا اولویـت کودهـای نیتروژنه، فسفاته و پتاسه به عنوان سریع‌ترین راه برای تـامین عناصـر غذایی مورد نیاز گیاه و دستیابی به عملکرد بالا در کوتاه مدت، موجب عـوارض جبـران‌ناپـذیری بـر محـیط زیسـت از جملـه از بـین رفـتن میکروارگانیسم‌های خاک، افزایش فرسایش خـاک‌هـای کشـاورزی و آلودگی آب‌های زیرزمینـی شـده اسـت (Trupiano *et al.*, 2017). استفاده نامتعادل و بی‌رویه از کودهای شیمیایی علاوه بر اثرات منفـی زیست محیطی، موجب افزایش هزینه‌هـای تولیـد محصـول گردیـده است.

از راهکارهای مهم در راستای حفظ محیط زیسـت جهـت تـامین عناصر غذایی و بهبود عملکرد محصولات کشاورزی می‌توان به بهینه سازی مصرف نهاده‌های شیمیایی و تلفیق آن‌هـا بـا کودهـای آلـی و زیستی اشاره نمود. کودهای زیستی ضمن محافظت از محیط‌زیست و مقرون به صرفه بودن، مکمل کودهای شیمیایی در سیستم کشاورزی پایدار می‌باشند (Youssef *et al.*, 2014). کودهای زیستی با افزایش محتوای مواد مغذی، مواد آلی خاک و ظرفیت تبادل کـاتیونی، سـبب بهبود حاصلخیزی خاک می‌شوند. با توجه به پتانسیل میکروارگانیسم-های مفید خاکزی در افزایش بازدهی محصول، مصرف بـاکتری‌هـای بومی سازگار با شرایط اقلیمی و خاک کشور با هـدف تولیـد کودهـای بیولوژیکی، از ارزش ویژه‌ای برخـوردار اسـت (Seyed Sharifi and Khavazi, 2011). بر خلاف کودهـای شـیمیایی، کودهـای زیسـتی (باکتری‌های محرک رشد) به طور مستقیم مواد مغذی را تامین نمـی-کنند بلکه با تبدیل عناصر مهم تغذیه‌ای به فرم قابل دسترس گیـاه از طریق فرآیندهای بیولوژیکی شامل واکنش با مواد مغذی مهـم ماننـد فسفر، روی، آهن و گوگرد برای تثبیت نیتروژن و آزاد کردن فسـفر از سنگ فسفات، تولید فیتوهورمون‌های مختلفی از جمله ایندول‌استیک-اسید و کاهش اثرات مضر فیتوپاتوژن‌ها از طریق مکانیسم‌هـای غیـر مستقیم، گیاهان را در برابر تنش‌های زنـده و غیـر زنـده محافظـت و باعث افزایش رشد گیاه میزبان مـی‌شـوند (Youssef *et al.*, 2014). باکتری‌های انحلال‌کننده فسفات و قارچ مایکوریزا به عنوان کودهای زیستی به ویژه در خاک‌هایی که کمبود فسـفر دارنـد دارای پتانسـیل بالایی برای تقویـت رشـد و عملکـرد محصـولات زراعـی مـی‌باشـند (Awasthi *et al.*, 2011). قارچ مایکوریزا آربوسکولار، بیـانگر یـک ارتباط کلیدی بین گیاهان و مواد مغذی معدنی خاک است. قارچ‌هـای مایکوریزا دارای رابطه همزیستی اجباری با اکثر گیاهـان هسـتند و از طریق افزایش جذب فسفر و تغذیه گیاهان، موجب افزایش رشد گیـاه میزبان می‌گردند (Berruti *et al.*, 2016).

افزایش وزن تازه و خشک اندام هوایی و ریشه، اسـانس، غلظـت عناصر نیتروژن، فسفر و پتاسیم با کاربرد باکتری‌هـای ریزوسـفری در گیاه ریحان (Ordookhani *et al.*, 2011)، افزایش عملکرد وزن تازه و خشک اندام هوایی، تعداد برگ، قطر ساقه و غلظت عناصر نیتروژن، فسفر، پتاسیم و منیزیم با کاربرد باکتری سودوموناس و قارچ مایکوریزا در گیاه نعناع فلفلی (Mahmoudzadeh *et al.*, 2014)، تاثیر معنـی دار بر عملکرد وزن تازه و خشک بخش هوایی گیـاه کلـم بـا کـاربرد بـاکتری‌هـای محـرک رشـد (Abdollahi *et al.*, 2020)، افـزایش معنی‌دار وزن تازه و خشک، غلظت منگنـز، روی، آهـن و مـس انـدام هوایی با مایه‌زنی باکتری سودوموناس در گیاه اسـفناج (Bolhasani *et al.*, 2020) و افزایش رشد، وزن تـازه و خشـک بوتـه بـا کـاربرد باکتری‌هـای محـرک رشـد در گیـاه کـاهو (Han *et al.*, 2005) در تحقیقات قبلی گزارش شده است. این آزمایش با هـدف مقایسـه اثـر کودهای زیستی اعم از باکتری‌های انحـلال‌کننـده فسـفر، پتاسـیم و قارچ مایکوریزا با سطوح مختلف کود شیمیایی بـر عملکـرد و کیفیـت کاهو در شرایط گلخانه‌ای انجام شد.

مواد و روش

شرایط رشد و مواد گیاهی

به‌منظور ارزیابی مقایسه اثر پیش تیمار بذر با باکتری‌های محرک رشد گیاهی، قارچ مایکوریزا و کود شـیمیایی، بـر عملکـرد، کیفیـت و تجمع نیترات بر گیاه کاهو رقم New Red Fire، آزمایشـی بصـورت طرح کاملا تصادفی در سه تکرار، در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه زنجان در پاییز سال ۱۳۹۹ به اجرا درآمد. بذر مورد آزمایش از شرکت Takii seed CO, Japan تهیه شد. تیمارهـای آزمایشـی ۱۴ تیمـار شـامل شاهد (بدون کود و بدون تلقیح)، تلقیح با سـه سـطح از بـاکتری‌هـای انحـلال‌کننـده پتاسـیم (بـاکتری‌هـای *سـودوموناس کورینسـیس*، *سودوموناس ونکورنسیس* و ترکیب دو سویه باکتری‌های *سودوموناس کورینسیس* و *سودوموناس ونکورنسیس* (KSB)) + ۱۰۰ درصـد کـود نیتروژن و فسفر، تلقیح با سه سطح از باکتری‌های انحلال‌کننده فسفر (باکتری‌های *سودوموناس پوتیدا*، *پانتوآگلومرانس* و ترکیـب دو سـویه باکتری‌هـای *سـودوموناس پوتیـدا* و *پـانتوآگلومرانس* (PSB)) + ۱۰۰

درصد کود نیتروژن و پتاسیم، تلقیح با یک سطح از ترکیب باکتری های انحلال‌کننده پتاسیم و فسفر (باکتری‌های *سودوموناس کورینسیس*، *سودوموناس ونکورنسیس*، *سودوموناس پوتیدا* و *پانتوآگلومرانس*) + ۱۰۰ درصد کود نیتروژن (Mix bac)، تلقیح با یک سطح قارچ مایکوریزا از ترکیب سه گونه قارچ *گلوموس موسه‌آ*، *گلوموس اتونیکاتوم* و *گلوموس اینترادیاسه* + ۱۰۰ درصد کود نیتروژن و پتاسیم، پنج سطح کود شیمیایی ترکیبی از عناصر نیتروژن، فسفر و پتاسیم به صورت N100P100K0، N100P100K100، N100P0K100، N100P25K100 و N100P100K25 که عدد ۱۰۰، ۲۵ و صفر در تیمارهای شیمیایی به ترتیب نشان‌دهنده ۱۰۰ و ۲۵ درصد عناصر مورد نیاز بر حسب آزمون خاک و عدد صفر نشان دهنده عدم استفاده از آن عنصر در تیمار می‌باشد. بر اساس پیش کشت آزمایشی انجام شده و عدم پاسخ مناسب باکتری‌های آزادزی در تامین نیتروژن مورد نیاز گیاه، در همه تیمارهای زیستی نیتروژن مورد نیاز با مصرف اوره تامین شد. سویه‌های خالص باکتری‌های مورد آزمایش از شرکت زیست فناور سبز در شهر تهران تهیه گردید. تلقیح باکتری‌ها به صورت پیش‌تیمار بذر انجام شد، برای این منظور ابتدا بذور با هیپوکلریت سدیم ۵ درصد به مدت یک دقیقه استریل سطحی شد، سپس به‌منظور حذف هیپوکلریت سدیم، بذرها با آب مقطر استریل ۱۰ بار شستشو شدند. بذرهای استریل سطحی شده به ارلن مایرهای حاوی سوسپانسیون باکتری با جمعیت 10^7 تا 10^8 (CFU^1/gr) افزوده و به مدت ۴۵ دقیقه بر روی شیکر با ۱۲۰ دور در دقیقه و دمای ۲۰ درجه سلسیوس قرار داده شدند. بذور در شرایط استریل فراهم شده با استفاده از دستگاه هود لامینار از داخل ارلن مایرها خارج و به‌منظور حذف رطوبت اضافی بر روی آلومینیوم فویل استریل پخش شد. قارچ مایکوریزا مورد آزمایش از شرکت زیست فناوران توران در شهر شاهرود تهیه گردید. ۵۰ گرم ترکیبی از سه گونه قارچ *گلوموس اتونیکاتوم*، *گلوموس موسه‌آ* و *گلوموس اینترادیاسه* با خاک منطقه ریزوسفر در هر گلدان (۴/۵ کیلوگرم خاک شنی لومی) مایه‌زنی شد. شرایط دمایی گلخانه در روز ۲±۱۸ درجه سانتی‌گراد و شب ۲±۱۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۷۰ درصد در روز و ۶۰ درصد در شب بود. ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد آزمایش در (جدول ۱) آورده شده است.

صفات مورد ارزیابی

بوته‌ها ۷۵ روز پس از کاشت، برداشت شدند. وزن تازه بوته با ترازوی دقت یک صدم، اندازه‌گیری و در واحد گرم گزارش گردید. قطر تاج بوته در زمان برداشت با استفاده از کولیس دیجیتال برحسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد.

1- Colony forming unit

میزان آنتوسیانین برگ به روش واگنر (Wagner, 1979) و با استفاده از متانول اسیدی اندازه‌گیری شد. میزان آنتوسیانین برای هر عصاره بر حسب میکرومول بر گرم وزن تازه با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید که (A) مقدار جذب، (Ɛ) ضریب خاموشی معادل ۳۳۰۰۰ مول بر سانتی‌متر، (b) عرض کوت و (c) مقدار آنتوسیانین را نشان می‌دهد.

$$A= Ɛbc$$

میزان مواد جامد محلول با استفاده از دستگاه رفراکتومتر مدل ATAGO Brixo- 32 اندازه‌گیری شد و بر حسب درصد بریکس بیان شد (Mostofi and Najafi, 2005).

جهت اندازه‌گیری اسید کل (اسید قابل تیتراسیون) از روش تیتر با هیدروکسید سدیم استفاده شد (Mostofi and Najafi, 2005) و بر اساس فرمول زیر محاسبه گردید که در این فرمول (E) اکی والان اسید، (N) نرمالیته محلول هیدروکسید سدیم، (S) مقدار هیدروکسید سدیم مصرف شده بر حسب میلی‌لیتر، (F) فاکتور NaOH ، (C) مقدار عصاره را نشان می‌دهد.

درصد اسید قابل تیتراسیون = $[E×N×S×F/C]×100$

میزان اسیدآسکوربیک به روش AOAC (AOAC, 2000) اندازه‌گیری و بر حسب میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر گزارش شد.

میزان تجمع نیترات به روش کاتالدو و همکاران (Cataldo *et al*., 1975) اندازه‌گیری شد. برای این منظور ابتدا ۱۰۰ میلی‌گرم از نمونه برگ خشک به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد عصاره‌گیری شد. سپس به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. پس از آن مقدار ۲۰۰ میکرولیتر عصاره با ۸۰۰ میکرولیتر سالسیلیک اسید پنج درصد مخلوط و پس از ۲۰ دقیقه، ۱۹ میلی‌لیتر سود دو نرمال افزوده شد. برای اندازه‌گیری مقدار نیترات، میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۴۱۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد.

آنالیز داده‌ها

آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ و مقایسه میانگین داده‌ها توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال یک و پنج درصد صورت گرفت و رسم نمودارها با نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج و بحث

صفات رویشی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر کودهای زیستی و شیمیایی در سطح یک درصد بر وزن تازه بوته و قطر تاج معنی‌دار گردید (جدول ۲). با توجه به نتایج به دست آمده، حداکثر

وزن تازه بوته با کاربرد تیمار باکتری ترکیبی (Mix bac) + کود نیتروژن حاصل شد، که نسبت به گیاهان شاهد ۴۲/۳ درصد افزایش وزن تازه بوته به‌دست آمد. کمترین وزن تازه بوته در گیاهان شاهد بود (شکل ۱). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد، کاربرد باکتری های انحلال‌کننده پتاسیم و فسفر به صورت خالص و ترکیبی و قارچ مایکوریزا موجب افزایش معنی‌دار قطر تاج بوته نسبت به گیاهان شاهد گردید. کاربرد باکتری ترکیبی (Mix bac) علاوه بر افزایش وزن تازه بوته به طور معنی‌داری میزان قطر تاج بوته را افزایش داد به طوری‌که بیشترین میزان قطر تاج بوته در زمان برداشت (۳۰۶/۲۳ میلی‌متر) در تیمار باکتری ترکیبی (Mix bac) حاصل شد. کمترین میزان قطر تاج بوته (۲۱۶/۵۶ میلی‌متر) در گیاهان شاهد بود که با تیمار کود شیمیایی N100P100K0 در یک گروه معنی‌داری قرار گرفتند (جدول ۲ و شکل ۱).

باکتری‌های محرک رشد با مشارکت در تسهیل دسترسی به عناصر غذایی (حلالیت پتاسیم یا فسفر، جذب نیتروژن و سایر عناصر غذایی) به طور مستقیم و یا تولید و تعدیل‌سازی هورمون‌های گیاهی از جمله سیتوکنین‌ها، اسید جیبرلیک و ایندول استیک اسید موجب افزایش رشد و عملکرد در گیاهان می‌شوند (Raval and Desai, 2012). قارچ‌های مایکوریزا با نفوذ ریسه‌ها به ریشه گیاه میزبان و ارتباط با محیط اطراف ریشه موجب افزایش جذب مواد غذایی و آب در گیاهان می‌شوند (Berruti *et al.*, 2016). نیتروژن با ارتباط مستقیم با سنتز کربوهیدرات‌ها، آمینواسیدها، مولکول‌های کلروفیل و کارتنوئیدها، نقش تعیین کننده‌ای در رشد و نمو گیاهان دارد (Taiz and Zeiger, 2010). یکی از دلایل اختلاف رشد و جذب عناصر گیاه را می‌توان به فرآیند تثبیت نیتروژن توسط باکتری‌های تثبیت کننده (همزیست و آزادزی) و ریزوباکتری‌های انحلال‌کننده فسفات و رقابت بر سر منابع غذایی ترشح شده از ریشه گیاهان در منطقه ریزوسفر دانست (Zhang *et al.*, 2013). با توجه به نتایج، با کاربرد تلفیقی کودهای زیستی و شیمیایی می‌توان علاوه بر کاهش مصرف نهاده‌های شیمیایی، هزینه‌های تولید و آسیب به محیط زیست، میزان عملکرد و رشد را در مقایسه با مصرف کودهای شیمیایی در پرورش گیاه کاهو افزایش داد. اثر کاربرد ترکیبی باکتری‌های محرک رشد نسبت به خالص آنها بر افزایش عملکرد در گیاه شنبلیله، با کاربرد ترکیب ریزوبیوم و *Ensifer melilti* (Kumar *et al.*, 2011)، ترکیب باکتری‌های باسیلوس و سودوموناس در سیب‌زمینی (Abd-alla and Omer, 2001) و در گوجه‌فرنگی با کاربرد ترکیب ازتوباکتر و آزوسپیریلوم (Sharafzadeh, 2012) گزارش شده است.

جدول ۱- برخی از خصوصیات شیمیایی و فیزیکی خاک مورد آزمایش

Table 1- Some chemical and physical properties of the soil

بافت خاک Soil Texture	فسفر P (mg.kg^{-1})	پتاسیم K (mg.kg^{-1})	آهن Fe (mg.kg^{-1})	روی Zn (mg.kg^{-1})	نیتروژن N (%)	هدایت الکتریکی EC (dS.m^{-1})	pH
شنی لوم Sandy Loam	11	120	1.74	0.64	0.07	0.85	7.85

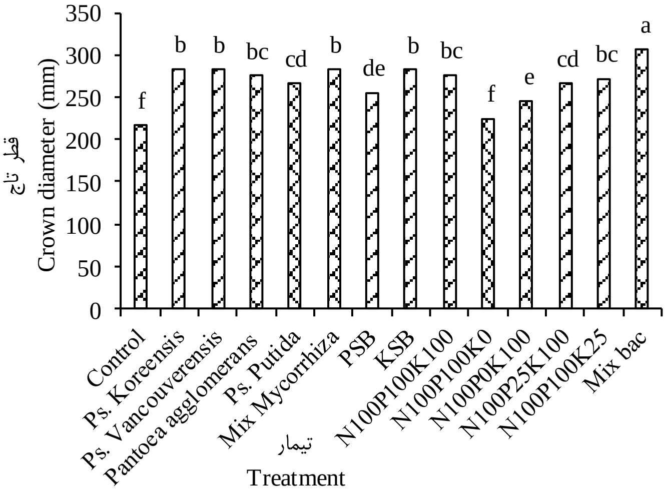
جدول ۲- تجزیه واریانس اثر کودهای زیستی و شیمیایی برخی صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی کاهو

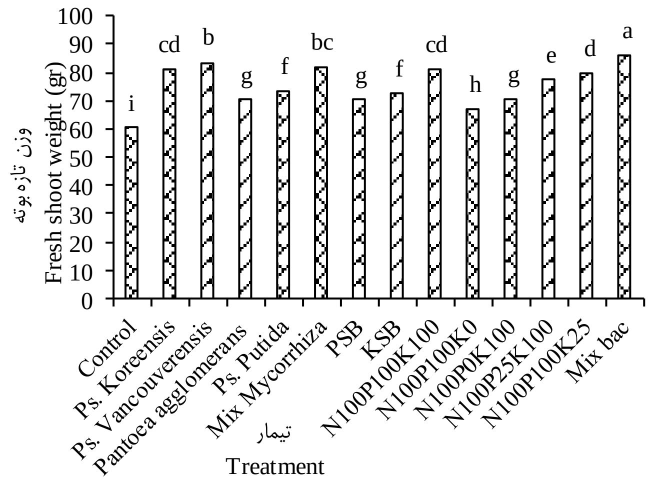
Table 2- ANOVA for the effect of biological and chemical fertilizers on some morphological and physiological traits of lettuce

منابع تغییرات Sources of variation	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean of squares وزن تازه بوته Fresh shoot weight	قطر تاج Crown diameter	آنتوسیانین Anthocyanin	اسیدآسکوربیک Ascorbic acid	اسید قابل تیتراسیون Titratable acidity	مواد جامد محلول کل TSS	تجمع نیترات برگ Leaf nitrate accumulation
تیمار Treatment	13	203.39**	1745.14**	1.07*	37.61**	0.006**	2.18**	110.29**
خطا Error	28	1.01	63.59	0.29	2.85	0.0007	0.38	0.57
ضریب تغییرات C. V (%)	-	1.34	2.99	14.28	7.30	11.66	9.33	3.46

*، **: به‌ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

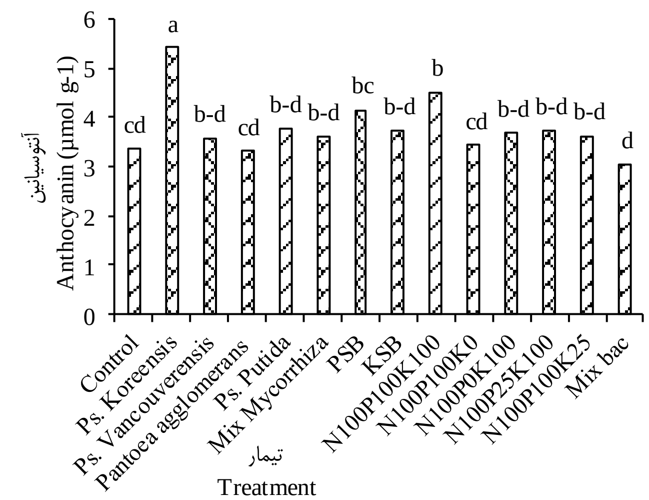
*, **: Significant at $p \leq 0.05$ and $p \leq 0.01$, respectively





شکل ۱- اثر کودهای زیستی و شیمیایی بر وزن تازه و قطر تاج بوته کاهو

Figure 1- The effect of bioligical and chemical fertilizers on the fresh shoot weight and crown diameter of lettuce (DMRT, *p≤0.05*).



شکل ۲- اثر کودهای زیستی و شیمیایی بر محتوای آنتوسیانین کاهو

Figure 2- The effect of biological and chemical fertilizers on the anthocyanin content of lettuce (DMRT, *p≤0.05*).

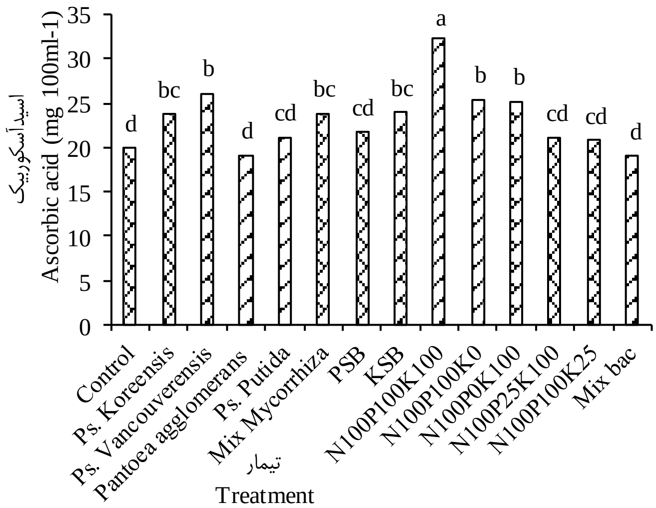
محتوای آنتوسیانین

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر کودهای زیستی و شیمیایی در سطح پنج درصد بر محتوای آنتوسیانین معنی‌دار گردید (جدول ۲). تلقیح باکتری *سودوموناس کورینسیس* + کود نیتروژن و فسفر به‌طور قابل توجهی موجب افزایش محتوای آنتوسیانین در برگ گردید به‌طوری‌که با اعمال باکتری *سودوموناس کورینسیس* ۶۲/۲ درصد افزایش محتوای آنتوسیانین نسبت به شاهد حاصل شد.

با توجه به نتایج و افزایش غلظت آنتوسیانین با کاربرد باکتری *سودوموناس کورینسیس* (باکتری‌های انحلال‌کننده پتاسیم) + کود نیتروژن و فسفر و کود شیمیایی N100P100K100 در مقایسه با سطوح مختلف کود شیمیایی می‌توان نتیجه گرفت، بیوسنتز آنتوسیانین‌ها با افزایش میزان پتاسیم در دسترس گیاه رابطه مثبت دارد. پتاسیم در تولید کربوهیدرات‌ها و حمل و نقل قندها نقش بسیار مهمی دارد و از آنجایی که قند برای سنتز آنتوسیانین‌ها ضروری می‌باشد، می‌تواند موجب تحریک سنتز آنتوسیانین در گیاه گردد (Hiratsuka *et al*., 2001). علاوه بر این افزایش غلظت آنتوسیانین با افزایش میزان پتاسیم محلول ممکن است با توجه به نقش عنصر پتاسیم در فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمولیناز باشد به‌طوری‌که پتاسیم به عنوان یک کوفاکتور موجب فعال شدن سایر آنزیم‌ها، مانند فلاونوئید ۳-گلیکوزیل ترانسفراز و UPD گالاکتوز می‌شود (Nava *et al*., 2007). محققین در تحقیقات قبلی گزارش کردند، تلقیح باکتری‌های محرک رشد موجب افزایش محتوای آنتوسیانین در گیاه لوبیا (Oloumi *et al*., 2019) و ریحان بنفش (Mariotti *et al*., 2021) گردید که نتایج پژوهش حاضر را تایید می‌نماید. برخلاف نتایج پژوهش ما، کاربرد کودهای زیستی در گیاه کلم قرمز تاثیر معنی‌داری بر محتوای آنتوسیانین نشان نداد (Sarkar and Rakshit, 2021).

اسیدآسکوربیک (ویتامین ث)

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر کودهای زیستی و شیمیایی بر محتوای اسیدآسکوربیک در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد، حداکثر محتوای اسیدآسکوربیک به ترتیب با اعمال کود شیمیایی N100P100K100 و باکتری *سودوموناس ونکورنسیس* + کود نیتروژن و فسفر حاصل شد که به طور میانگین ۳۴/۴ درصد مقدار محتوای اسیدآسکوربیک نسبت به شاهد افزایش یافت (شکل ۳). با توجه به نتایج، سنتز اسیدآسکوربیک با افزایش میزان پتاسیم در دسترس گیاه رابطه مثبتی داشته است. پتاسیم (K) یکی از عناصر پرمصرف گیاهی، نقش کلیدی در سنتز سلول‌ها، آنزیم‌ها، پروتئین‌ها، نشاسته، سلولز و ویتامین‌ها دارد (Maqsood *et al*., 2013). اسیدآسکوربیک یک لاکتون اسیدی و قندی می‌باشد، غلظت بیشتر اسیدآسکوربیک در تیمارهایی که پتاسیم بیشتری در دسترس داشتند احتمالا با انتقال قندهای فتوسنتزی و سنتز کربوهیدرات‌ها مرتبط است.



شکل ۳- اثر کودهای زیستی و شیمیایی بر محتوای اسیدآسکوربیک (ویتامین ث) کاهو

Figure 3- The effect of biological and chemical fertilizers on the ascorbic acid (Vitamin C) content of lettuce (DMRT, $p \leq 0.05$).

همبستگی مثبت بین کاربرد پتاسیم و غلظت اسیدآسکوربیک در مطالعات قبلی در گوجه‌فرنگی نشان داده شده است (Constán-Aguilar *et al*., 2015). افزایش فاکتورهای کیفی از قبیل مواد جامد محلول، اسیدآسکوربیک، اسیدیته قابل تیتراسیون تحت تیمار پتاسیم در فلفل (Rubio *et al*., 2010) گزارش شده است. محققین گزارش کردند کاربرد باکتری‌های محرک رشد، میزان محتوای اسیدآسکوربیک را در کاهو (Ahmadi *et al*., 2020) و گوجه‌فرنگی (Sheykh Alipour *et al*., 2016) افزایش داد.

مواد جامد محلول و اسید قابل تیتراسیون

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر کودهای زیستی و شیمیایی در سطح یک درصد بر مقدار مواد جامد محلول و اسید قابل تیتراسیون معنی‌دار گردید (جدول ۲). حداکثر مقدار مواد جامد محلول به ترتیب با کاربرد باکتری *سودوموناس کورینسیس* + کود نیتروژن و فسفر و کود شیمیایی N100P100K100 حاصل شد و کمترین مقدار مواد جامد محلول در گیاهان شاهد مشاهده شد (شکل ۴). با توجه به نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، کاربرد باکتری های انحلال‌کننده پتاسیم و فسفر، قارچ مایکوریزا و سطوح مختلف کود شیمیایی NPK به‌طور معنی‌داری اسید قابل تیتراسیون را نسبت به شاهد افزایش دادند (شکل ۴). حداکثر مقدار اسید قابل تیتراسیون با اعمال باکتری *سودوموناس ونکورنسیس* + کود نیتروژن و فسفر و باکتری ترکیبی (Mix bac) + کود نیتروژن حاصل شد که نسبت به گیاهان شاهد ۱۵۴/۵ درصد افزایش اسید قابل تیتراسیون به‌دست آمد. کمترین مقدار اسید قابل تیتراسیون ۰/۱۱ درصد در گیاهان شاهد مشاهده شد (شکل ۴). با توجه به نتایج می‌توان بیان داشت که مقدار مواد جامد محلول و اسید قابل تیتراسیون با افزایش میزان پتاسیم در دسترس گیاه رابطه مثبتی داشته است و نشان می‌دهد نقش عنصر پتاسیم در شکل‌گیری و ساخت قند محلول پررنگ‌تر از نقش عناصر دیگر مانند نیتروژن و فسفر است.

مواد جامد محلول ترکیبی از اسیدها، قندها، مواد معدنی و آلی مانند کلسیم، پتاسیم، آهن و دیگر مواد حل شده در شیره سلولی هستند که به‌طور کل حدود ۸۰ تا ۹۰ درصد آن را قندها تشکیل می دهند و به‌عنوان یک پارامتر بسیار مهم در تعیین کیفیت می‌باشد (Hosseini *et al*., 2019). پتاسیم، یک ماده مهم معدنی، موجب افزایش و حفظ ویژگی‌های کیفی مانند مواد جامد محلول، قند محلول و اسیدهای آلی می‌شود. افزایش پتاسیم قابل دسترس برای گیاهان به لحاظ فیزیولوژیکی موجب فعال شدن بسیاری از آنزیم‌های موثر در متابولیسم کربوهیدرات‌ها می‌گردد (Schwarz *et al*., 2013).

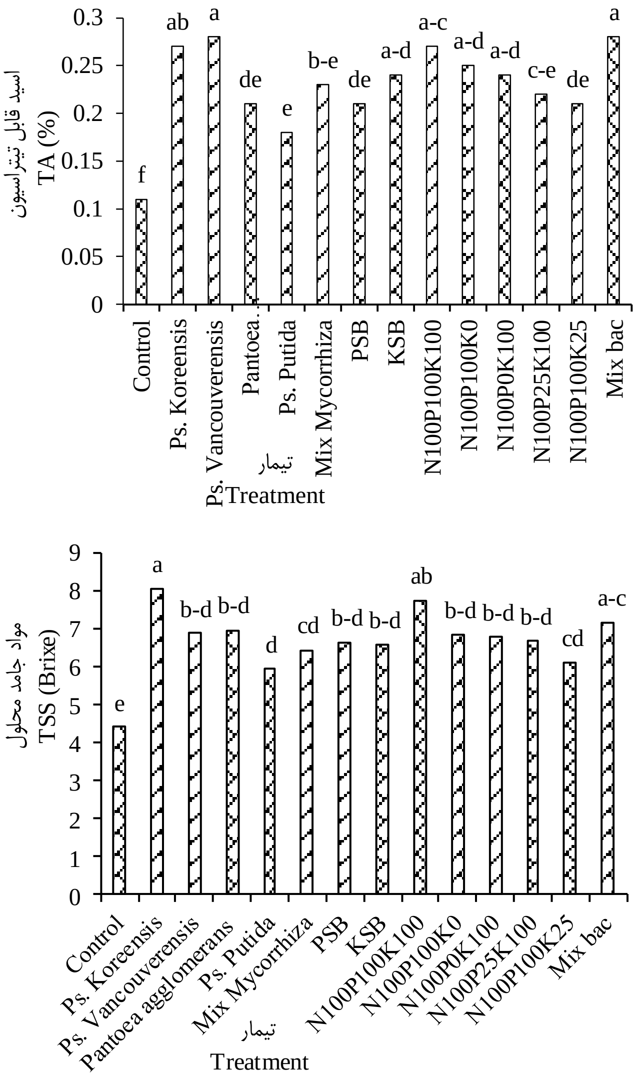
افزایش مقدار قند محلول با افزایش میزان پتاسیم قابل دسترس در گیاه کاهو (Barickman *et al*., 2016)، فلفل دلمه‌ای (Rubio *et al*., 2010) و طالبی (Lin *et al*., 2004) در گزارشات قبلی محققین بیان شده است. افزایش مقدار کربوهیدرات‌ها و قند محلول با مصرف کود NPK در گیاه سیاهدانه گزارش شد (Khalid and Shedeed, 2015). علاوه بر این، پژوهشگران بیان کردند مقدار اسیدیته و قندهای محلول شدیداً تحت تاثیر مواد غذایی در دسترس گیاه و تأمین بهینه عناصر غذایی به ویژه پتاسیم و کلسیم می‌باشد (Macit *et al*., 2007). محققان گزارش کردند پتاسیم به‌عنوان یکی از عناصر غذایی پرمصرف گیاه، موجب افزایش اسید و مواد جامد محلول شد که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد (Hosseini *et al*., 2019).

تجمع نیترات برگ

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر کودهای زیستی و شیمیایی بر میزان تجمع نیترات برگ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۲). با توجه به نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، کاربرد باکتری‌های انحلال‌کننده پتاسیم و فسفر به صورت خالص و ترکیبی و قارچ مایکوریزا، موجب کاهش معنی‌دار مقدار تجمع نیترات برگ نسبت به اعمال سطوح مختلف کود شیمیایی NPK گردید (شکل ۵). کمترین میزان تجمع نیترات برگ ($12/92 \mu g.gDW^{-1}$) در گیاهان شاهد، مشاهده شد. همچنین با کاربرد باکتری ترکیبی + کود نیتروژن و ترکیب باکتری‌های *سودوموناس کورینسیس* و *سودوموناس ونکورنسیس* + کود نیتروژن و فسفر، مقدار تجمع نیترات برگ کمتری در مقایسه با سایر تیمارهای اعمال شده بخصوص تیمارهای کود شیمیایی حاصل شد (شکل ۵). حداکثر مقدار تجمع نیترات برگ با اعمال کود شیمیایی N100P100K0 حاصل شد، که نسبت به شاهد ۱۸۵/۷ درصد و نسبت به تیمار N100P100K100، ۲۱/۹ درصد افزایش تجمع نیترات برگ به‌دست آمد (شکل ۵).

یکی از مهمترین عوامل تجمع نیترات در گیاهان، میزان فتوسنتز گیاه می‌باشد و مقدار غلظت نیترات موجود در گیاه با میزان کربوهیدرات‌های تولید شده طی فرآیند فتوسنتز رابطه مستقیمی دارد (Bian *et al*., 2016). یکی از عوامل مهم اثرگذار بر مقدار فتوسنتز، میزان فراهمی عنصر آهن برای گیاهان می‌باشد (Bahrami *et al*., 2020). باکتری خانواده *Pseudomonas* spp. دارای ژن‌های عملکردی برای تولید سیدروفور، فنازین، کیتیناز و پراکسیدازها هستند (Gupta *et al*., 2014). سیدروفورها نوع خاصی از حامل‌های یونی یا یونوفورها می‌باشند، این ترکیبات با عنصر آهن، کمپلکس محلول آهن تشکیل داده و قابلیت جذب آهن را برای گیاه میزبان امکان‌پذیر

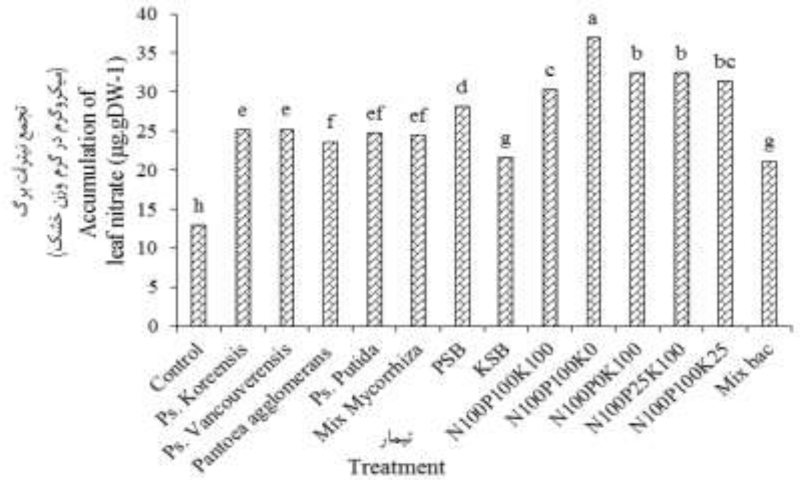
می‌سازند (Clark, 2004). مطالعات نشان داده است که عنصر آهن نقش مهمی در فعالیت‌های آنزیم‌های موثر در احیاء و متابولیسم نیترات دارد. علاوه بر این، محققین گزارش کردند در گیاهانی که کمبود آهن دارند میزان فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز کاهش‌یافته است و علت را مربوط به نقش عنصر آهن در ساختار این آنزیم دانستند (Borlotti *et al*., 2012). پاسخ گیاهان به تلقیح با کودهای زیستی به دلیل فراهم بودن عناصر غذایی برای گیاه میزبان، موجب افزایش فتوسنتز و مواد فتوسنتزی می‌گردد (Kaur and reddy, 2014). افزایش جذب پتاسیم موجب افزایش انتقال نیترات به اندام‌های هوایی و کاهش تجمع نیترات در گیاهان می‌گردد، این امر نتایج پژوهش حاضر را تایید می‌نماید (Brown *et al*., 1993).



شکل ٤- اثر کودهای زیستی و شیمیایی بر میزان مواد جامد محلول و اسید قابل تیتراسیون گیاه کاهو

Figure 4- The effect of biological and chemical fertilizers on the total soluble solids (TSS) and the titratable acidity (TA) of lettuce

(DMRT, $p \leq 0.05$).



شکل ۵- اثر کودهای زیستی و شیمیایی بر میزان تجمع نیترات برگ گیاه کاهو

Figure 5- The effect of biological and chemical fertilizers on the accumulation of nitrate of lettuce
(DMRT, $p \leq 0.05$).

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به‌دست آمده از این پژوهش، پیش تیمار بذر با ترکیب باکتری‌های انحلال‌کننده پتاسیم و فسفر موجب افزایش معنی‌دار وزن تازه، بهبود کیفیت کاهو و کاهش تجمع نیترات برگ گردید. با کاربرد باکتری *سودوموناس کورینسیس* + کود نیتروژن و فسفر بیشترین میزان آنتوسیانین و مواد جامد محلول حاصل شد. پیش تیمار بذر با باکتری *سودوموناس ونکورنسیس* + کود نیتروژن و فسفر موجب افزایش معنی‌دار اسیدآسکوربیک (ویتامین ث) و اسید قابل تیتراسیون گردید. نتایج این پژوهش نشان داد، مدیریت تلفیقی کود، نقش به‌سزایی در افزایش عملکرد و کیفیت کاهو دارد و تلقیح بذر با ترکیب باکتری‌های انحلال‌کننده پتاسیم و فسفر در شرایط بهینه مصرف نیتروژن مناسب‌ترین روش کوددهی نسبت به دیگر تیمارها در این پژوهش برای گیاه کاهو رقم New Red Fire می‌باشد. بنابراین برای افزایش شاخص‌های کیفی و کمی در گیاه کاهو به جهت کاهش آسیب به محیط زیست و مصرف نهاده‌های شیمیایی توصیه می‌شود، کودهای زیستی حل‌کننده پتاسیم و فسفر و قارچ‌های مایکوریزا جایگزین کودهای شیمیایی پتاسه و فسفره گردد. با این حال، تحقیقات بیشتر برای یافتن جایگزین‌های مناسب کودهای نیتروژنی، پیشنهاد می‌شود.

منابع

1. Abd-alla, M.H., & Omer, S.A. (2001). Survival of *Rhizobia bradirhizobia* and aroch phospjate solubilizing fungus *Asoergillus nigeron* various carriers prom some agroinduster wastes and their effect on nodulation and growth of pahabean and soybean. *Journal of Plant Nutrition*, *24*, 261-272. https://doi.org/10.1081/PLN-100001386
2. Abdollahi, S., Golchin, A., & Shahryari, F. (2020). Effects of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on organic acids production and concentration of lead and cadmium in cabbage. *Journal of Water and Soil*, *34*(3), 737-754. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jsw.v34i3.85068
3. Ahmadi, N., Fatemi, H., Esmaielpour, B., & Ashraf Soultani-Tolarood, A. (2020). Effect of bio-priming with plant growth promoting bacteria on growth and biochemical characteristics, phenol, flavonoid, vitamin C and nitrate in lettuce (*Lactuca sativa* L.) rabicon cultivar in different growth substrates. *Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture*, *11*(2), 41-59. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.47176/jspi.11.2.18741
4. AOAC. (2000). Official method of analysis of the association of official analytical chemists, *Washington D.C, 12*, 377-378.
5. Awasthi, R., Tewari, R., & Nayyar, H. (2011). Synergy between plants and P-solubilizing microbes in soils: Effects on growth and physiology of crops. *International Research Journal of Microbiology*, *2*(12), 484-503.
6. Bahrami, N., Jalali, M., & Zare, A.K. (2020). The effect of various sources of iron on the nitrate accumulation in lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Iranian Journal of Soil and Water Research*, *51*(11), 2953-2963. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22059/ijswr.2020.306193.668669
7. Barickman, T.C., Horgan, T.E., Wheeler, J.R., & Sams, C.E. (2016). Elevated levels of potassium in greenhouse-

grown red Romaine lettuce impacts mineral nutrient and soluble sugar concentrations. *HortScience*, *51*(5), 504-509. https://doi.org/10.21273/HORTSCI.51.5.504
8. Berruti, A., Lumini, E., Balestrini, R., & Bianciotto, V. (2016). Arbuscular mycorrhizal fungi as natural biofertilizers: Let's benefit from past successes. *Frontiers in Microbiology*, *6*, 1559. https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01559
9. Bian, Z.H., Cheng, R.F., Yang, Q.C., Wang, J., & Lu, C.G. (2016). Continuous light from red, blue, and green light-emitting diodes reduces nitrate content and enhances phytochemical concentrations and antioxidant capacity in lettuce. *Journal of American Society for Horticultural Science*, *141*, 186-195.
10. Bolhasani, Z., Ronaghi, A.M., Ghasemi, R., & Zarei, M. (2020). Influence of growth promoting rhizobacteria and organic matter on the concentration of micronutrients of spinach in a calcareous soil affected by salinity. *Iranian Journal of Soil Research*, *34*(1), 81-94. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22092/ijsr.2020.122143
11. Borlotti, A., Vigani, G., & Zocchi, G. (2012). Iron deficiency affects nitrogen metabolism in cucumber (*Cucumis sativus* L.) plants. *BMC Plant Biology*, *12*, 189.
12. Brown, J.R., Christy, M., & Smith, G.S. (1993). *Nitrate in soils and plants*, In: Agricultural publication G9804, Missouri-Columbia.
13. Cataldo, D.A., Maroon, M., Schrader, L.E., & Youngs, V.L. (1975). Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, *6*(1), 71-80. https://doi.org/10.1080/00103627509366547
14. Clark, B.L. (2004). Characterization of a catechol-type siderophore and the detection of a possible outer membrane receptor protein from *Rhizobium leguminosarum* strain IARI 312. *Electronic Theses and Dissertations*, 992.
15. Constán-Aguilar, C., Leyva, R., Romero, L., Soriano, T., Blasco, B., & Manuel Ruiz, J. (2015). The effect of potassium biofortifcation over yield and nutritional quality of cherry tomato fruits. *American Journal of Advanced Food Science and Technology*. https://doi.org/10.7726/ajafst.2015.1006
16. FAO. (2019). *Lettuce and Chicory World Production*. Available at http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC.
17. Gupta, A., Gopal, M., Thomas, G.V., Manikandan, V., Gajewski, J., Thomas, G., Seshagiri, S., Schuster, S.C., Rajesh, P., & Gupta, R. (2014). Whole genome sequencing and analysis of plant growth promoting bacteria isolated from the rhizosphere of plantation crops coconut, cocoa and arecanut. *PLOS One*, *9*(8). https://doi.org/10.1371/journal.pone.0104259
18. Han, H.S., & Lee, K.D. (2005). Plant growth promoting rhizobacteria effect on antioxidant status, photosynthesis, mineral uptake and growth of lettuce under soil salinity. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, *1*(3), 210-215.
19. Hiratsuka, S., Onodera, H., Kawai, Y., Kubo, T., Itoh, H., & Wada, R. (2001). ABA and sugar effects on anthocyanin formation in grape berry cultured in vitro. *Scientia Horticulturae*, *90*(1), 121-130. https://doi.org/10.1016/S0304-4238(00)00264-8
20. Hosseini, F., Amiri, M.E., & Razavi, F. (2019). Improvement of anthocyanin and antioxidant properties of strawberry (cv. Amaros) by calcium lactate and potassium sorbate application. *Journal of Plant Productions*, *42*(4), winter, 2019. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22055/ppd.2019.25261.1580
21. Kaur, G., & Reddy, M.S. (2014). Influence of P-solubilizing bacteria on crop yield and soil fertility at multilocational sites. *European Journal of Soil Biology*, *61*, 35-40. https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2013.12.009
22. Khalid, A.K., & Shedeed, M.R. (2015). Effect of NPK and foliar nutrition on growth, yield and chemical constituents in *Nigella sativa* L. *Journal of Mater of Environmental of Science*, *6*(6), 1709-1714.
23. Kim, M.J., Moon, Y., Kopsell, D.A., Park, S., Tou, J.C., & Waterland, N.L. (2016). Nutritional value of Crisphead 'Iceberg' and Romaine lettuces (*Lactuca sativa* L.). *Journal of Agricultural Science*, *8*(11), 2016 ISSN 1916-9752 E-ISSN 1916-9760. https://doi.org/10.5539/jas.v8n11p1
24. Kumar, V., Singh Solanki, A., & Sharma, S. (2011). AM Fungi and *A. chroococcum* affecting yield, nutrient uptake and cost efficacy of isabgoal (*Plantago ovata*) in Indian arid region. *Thai Journal of Agricultural Science*, *44*(1), 53-60.
25. Lin, D., Hu, D., & Wang, Sh. (2004). Effects of potassium levels on fruit quality of muskmelon in soilless medium culture. *Scientia Horticulturae*, *102*, 53-60. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2003.12.009
26. Macit, I., Koc, A., Guler, S., & Deligoz, I. (2007). Yield quality and nutritional status of organically and conventionally-grown strawberry cultivars. *Asian Journal of Plant Sciences*, *6*(7), 1131-1136.
27. Mahmoudzadeh, M., Rasouli Sedghiyani, M.H., & Asgari Lejair, H. (2014). The effect of rhizospheric bacteria stimulating plant growth and arbuscular mycorrhizal fungi on the characteristics morphology and concentration of commonly used elements of peppermint medicinal plant (*Mentha piperita* L.) in greenhouse conditions. *Journal of Science and Techniques of Greenhouse Crops*, *24*, 155- 167. (In Persian). http://dx.doi.org/10.18869/acadpub.ejgcst.6.4.155
28. Maqsood, M., Shehzad, M.A., Wahid, A., & Butt, A.A. (2013). Improving drought tolerance in maize (*Zea mays*) with potassium application in furrow irrigation systems. *International Journal of Agriculture and Biology*, *15*,

1193-1198.
29. Mariotti, L., Scartazza, A., Curadi, M., Picciarelli, P., & Toffanin, A. (2021). *Azospirillum baldaniorum* Sp245 induces physiological responses to alleviate the adverse effects of drought stress in purple basil. *Plants*, *10*, 1141. https://doi.org/10.3390/plants10061141
30. Mostofi, Y., & Najafi, F. (2005). *Laboratory methods of analysis in horticultural sciences*, University of Tehran Press, Tehran.
31. Nava, G., Dechen, A.R., & Nachtigall, G.R. (2007). Nitrogen and potassium fertilization affect apple fruit quality in southern Brazil. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, *39*(1-2), 96-107. https://doi.org/10.1080/00103620701759038
32. Oloumi, H., Maleki, M., & Rostami, F. (2019). The comparison of growth parameter and pigments content of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants inoculated with various Kerman indigenous rhizobacteria. *Journal of Plant Process and Function*, *8*(29), 329-343. (In Persian with English abstract). http://dorl.net/dor/20.1001.1.23222727.1398.8.29.16.8
33. Ordookhani, K., Shahram Sharafzadeh, S., & Zare, M. (2011). Influence of PGPR on growth, essential oil and nutrients uptake of sweet basil. *Advances in Environmental Biology*, *5*(4), 672-677.
34. Raval, A.A., & Desai, P.B. (2012). Rhizobacteria from rhizosphere of sunflower (*Helianthus annuus* L.) and their effect on plant growth. *Research Journal of Recent Sciences*, *1*(6), 58-61.
35. Rubio, J.S., Garcia-Sanchez, F., Flores, P., Navarro, J.M., & Martinez, V. (2010). Yield and fruit quality of sweet pepper in response to fertilization with Ca^{2+} and K^{+}. *Spanish Journal of Agricultural Research*, *8*(1), 170-177. http://dx.doi.org/10.5424/sjar/2010081-1156
36. Sarkar, D., & Rakshit, A. (2021). Bio-priming in combination with mineral fertilizer improves nutritional quality and yield of red cabbage under Middle Gangetic Plains. *India Scientia Horticulturae*, *283*, 110075. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110075
37. Schwarz, D., Oztekin, G.B., Tuzel, Y., Bruckner, B., & Krumbein, A. (2013). Rootstocks can enhance tomato growth and quality characteristics at low potassium supply. *Scientia Horticulturae*, *1490*, 70-79. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2012.06.013
38. Seyed Sharifi, R., & Khavazi, K. (2011). Effect of seed inoculation with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on germination components and seedling growth of corn (*Zea mays* L.). *Journal of Agroecology*, *3*(4), 506-513. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/gsc.v12i4.27654
39. Sharafzadeh, S. (2012). Effects of PGPR on growth and nutrients uptake of tomato. *International Journal of Advanced Engineering Technology*, *2*, 27-31.
40. Sheykh Alipour, P., Bolandnazar, S., Sarikhani, M.R., & Irani F. (2016). Effect of some isolates of *Pseudomonas vaccination* on growth and nutrient uptake of tomato under field condition. *Journal of Agricultural Science and Sustainable Production*, *26*(1), 99-117. (In Persian with English abstract)
41. Taiz, L., & Zeiger, E. (2010). *Plant Physiology* (5th ed.), Sinauer Associates, Inc., Sunderland.
42. Trupiano, D., Cocozza, C., Baronti, S., Amendola, C., Vaccari, F.P., Lustrato, G., Lonardo, S.D., Fantasma, F., Tognetti, R., & Scippa, G.S. (2017). The effects of biochar and its combination with compost on lettuce (*Lactuca sativa* L.) growth, soil properties, and soil microbial activity and abundance. *International Journal of Agronomy*, 1-12. https://doi.org/10.1155/2017/3158207
43. Wagner, G.J. (1979). Content and vacuole/ extra vacuole distribution of neutral sugars, free amino acids and anthocyanins in protoplasts. *Plant Physiology*, *64*, 88-93. https://doi.org/10.1104%2Fpp.64.1.88
44. Youssef, M.M.A., & Eissa, M.F.M. (2014). Biofertilizers and their role in management of plant parasitic nematodes-A review. *Journal of Biotechnology and Pharmaceutical Research*, *5*(1), 1-6.
45. Zhang, S.Q., Li, J.F., Shi, S.L., Huo, P.H., Wen, W.W., Yin, J., Zhou, S., Liu, Q., & GAO, Y. (2013). Phosphate solubilizing microorganisms and phosphate solubilizing rhizobium. *Applied Mechanics and Materials*, *295*, 2328-2332.